3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure und 3α-Oxy-cholen-(9)-säure

---

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel

von

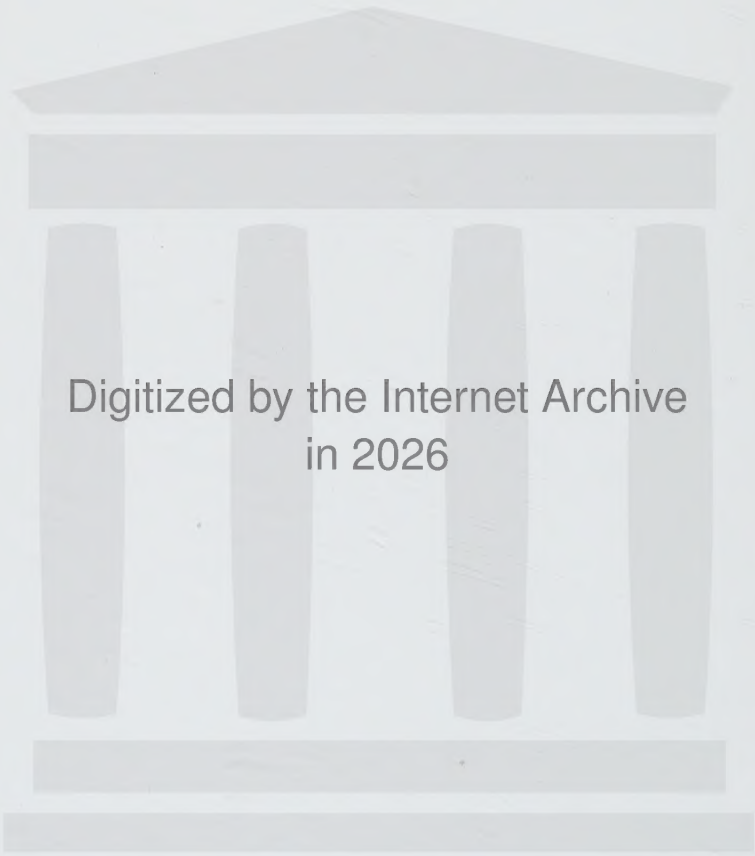
EWALD SEEBECK

aus Starrkirch-Wil (Sol.)

BASEL

Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., A. G.

1943


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546709_0185

3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure und 3α-Oxy-cholen-(9)-säure

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel

von

EWALD SEEBECK
aus Starrkirch-Wil (Sol.)

BASEL
Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie., A. G.
1943

Genehmigt von der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. *T. Reichstein* und Dr. *K. Leupin*.

Basel, den 25. Mai 1943.

Prof. Dr. *H. Erlenmeyer*

Dekan.

Herrn *Ewald Seebeck* wurde von der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 25. Mai 1943 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 25. Mai 1943 genehmigten Inaugural-Dissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure und 3α-Oxy-cholen-(9)-säure

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Pharmazeutischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen XXVI
Fasciculus Secundus 1943

MEINEN LIEBEN ELTERN
GEWIDMET

Ich möchte nicht unterlassen, auch an dieser Stelle

Herrn Professor Dr. T. REICHSTEIN

meinen wärmsten Dank auszusprechen für die Anregungen und die Hilfe jeder Art, die ich von ihm empfangen durfte.

Über Gallensäuren und verwandte Stoffe.
3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure und 3α-Oxy-cholen-(9)-säure.

Im Verlaufe von Untersuchungen in der Gallensäure-Reihe interessierte uns die 3α-Oxy-cholen-(9)-säure (VII). Die Gewinnung dieses Stoffes und einiger seiner Derivate in reiner Form gelang erst nach Überwindung erheblicher Schwierigkeiten, die denen ähnlich sind, die bei Versuchen zur Herstellung der Cholen-(9)-säure angetroffen wurden. Das grösste Hindernis für die Bereitung und Untersuchung der genannten Säure (VII) ist, wie hier vorgreifend bemerkt sei, die Tatsache, dass sie sowohl mit der isomeren 3α-Oxy-cholen-(11)-säure (entspr. Formel (XX)), wie mit der gesättigten Lithocholsäure (XI) isomorph zu sein scheint, wenigstens geben diese drei Säuren bei den Mischproben keine Schmelzpunktserniedrigungen, und auch die acetylierten Säuren, sowie die Methylester[1]) liefern bei der Mischprobe keine Erniedrigung. In der folgenden Tabelle I sind die Schmelzpunkte und Drehungen dieser Stoffe zusammengestellt.

[1]) Lediglich die Methylester der freien 3α-Oxy-cholen-(9)-säure und der 3α-Oxy-cholen-(11)-säure geben bei der Mischprobe eine schwache, aber eindeutige Schmelzpunktserniedrigung.

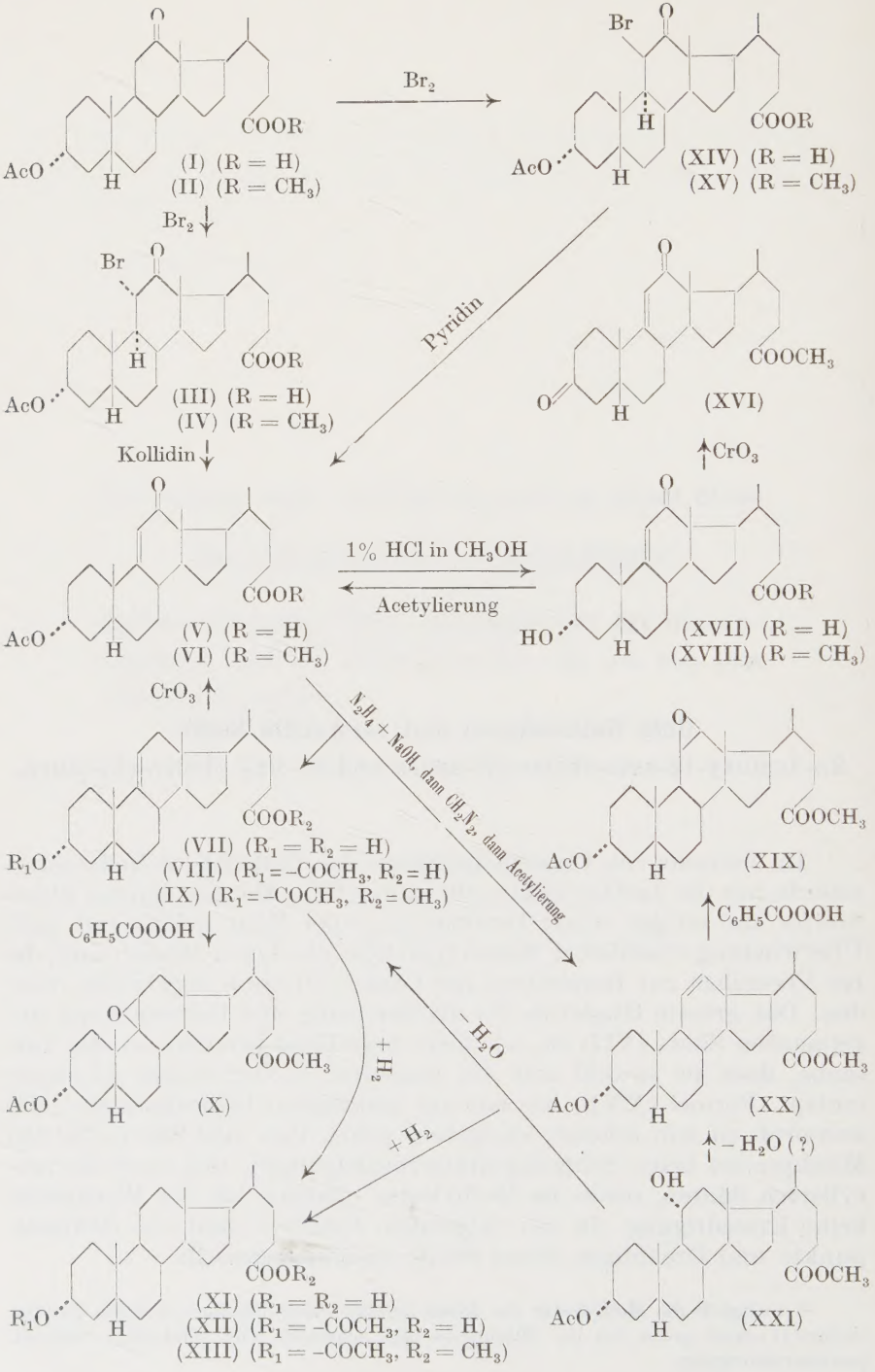

Br₂
(I) (R = H)
(II) (R = CH₃)
(XIV) (R = H)
(XV) (R = CH₃)
(III) (R = H)
(IV) (R = CH₃)
Pyridin
(XVI)
Kollidin
CrO₃
1% HCl in CH₃OH
Acetylierung
(V) (R = H)
(VI) (R = CH₃)
(XVII) (R = H)
(XVIII) (R = CH₃)
N₂H₄ + NaOH, dann CH₂N₂, dann Acetylierung
(VII) (R₁ = R₂ = H)
(VIII) (R₁ = -COCH₃, R₂ = H)
(IX) (R₁ = -COCH₃, R₂ = CH₃)
(XIX)
C₆H₅COOOH
(X)
(XX)
+ H₂
- H₂O
- H₂O (?)
(XI) (R₁ = R₂ = H)
(XII) (R₁ = -COCH₃, R₂ = H)
(XIII) (R₁ = -COCH₃, R₂ = CH₃)
(XXI)

Tabelle I.

	A 3α-Oxy-cholan-säure (Lithocholsäure)	B 3α-Oxy-cholen-(9)-säure	C 3α-Oxy-cholen-(11)-säure	Misch-proben[1])
Freie Oxy-säuren	(XI) Smp. korr. 190° [1]) $[\alpha]_D^{20} = +32{,}1°$ (abs. Alkohol)[2])	(VII) Smp. korr. 190° [1]) $[\alpha]_D^{13{,}5} = +47° \pm 2°$ (abs. Alkohol)[1])	Smp. korr. 165° [3]) $[\alpha]_D^{11} = +33{,}2° \pm 3°$ abs. Alkohol)[3])	A + B = 190—191° A + C = 164—170° B + C = 163—169°
Methyl-ester der freien Oxysäuren	Smp. korr. 130° [4]) $[\alpha]_D^{13} = +32{,}8° \pm 2°$ (Aceton)[1])	Smp. korr. 105° [1]) $[\alpha]_D^{13{,}5} = +45{,}3° \pm 2°$ (Aceton)[1])	Smp. korr. 101° [3]) $[\alpha]_D^{15} = +41{,}5° \pm 2°$ (Methanol)[3])	A + B = 105—120° A + C = 101—110° B + C = 90— 97°
Acetylierte Säuren	(XII) Smp. korr. 169° [5]) $[\alpha]_D$ = ?	(VIII) Smp. korr. 177° [1]) $[\alpha]_D^{13} = +60{,}0° \pm 2°$ (Aceton)[1])		
Methyl-ester der acetylier-ten Säuren	(XIII) Smp. korr. 134° [1]) $[\alpha]_D^{15} = +48{,}4° \pm 3°$ (Aceton)[1])	(IX) Smp. korr. 138° [1]) $[\alpha]_D^{14} = +62{,}9° \pm 2°$ (Aceton)[1])	(XX) Smp. korr. 116° [3]) $[\alpha]_D^{14} = +52{,}2° \pm 2°$ (Aceton)[3])	A + B = 133—136° A + C = 116—134° B + C = 116—135°

Die drei Säuren sind dementsprechend sehr schwer zu unterscheiden und zu trennen. Eine sichere Charakterisierung gelang bisher nur durch Behandlung der acetylierten Methylester mit Benzopersäure und anschliessende chromatographische Trennung der Reaktionsprodukte (vgl. weiter unten). Insbesondere war es auch nur auf diesem Wege möglich, in Mischpräparaten der drei Säuren den ungefähren Gehalt an jeder Komponente festzustellen.

Die Herstellung einer Säure vom Smp. 183—184°, der die Formel (VII) zuerteilt wird, ist von *Chakravorty* und *Wallis*[6]) beschrieben worden, doch geben die Autoren keinerlei Beweise dafür an, dass sie den gesuchten Stoff wirklich in Händen hatten. *Chakravorty* und *Wallis* benützten als Ausgangsmaterial die 3 α-Acetoxy-12-keto-cholansäure (I)[7]), die bromiert und dann durch Erwärmen mit Natrium-

[1]) Experimenteller Teil dieser Arbeit.

[2]) *H. Fischer*, Z. physiol. Ch. **73**, 204 (1911).

Dieselbe spez. Drehung, nämlich $[\alpha]_D^{19} = +32{,}7°$ (Alkohol) fanden *Borsche* und *Hallwass*[4]). Auch einige etwas höhere Werte finden sich in der Literatur, nämlich:

$[\alpha]_D^{12} = +35{,}2°$ (Alkohol), *L. Ruzicka, M. W. Goldberg*, Helv. **18**, 668 (1935);

$[\alpha]_D^{21} = +36°$ (Alkohol), *S. Bergström, G. A. D. Haslewood*, Soc. **1939**, 540.

[3]) *J. Press, T. Reichstein*, Helv. **25** 878 (1942).

[4]) *W. Borsche, F. Hallwass*, B. **55**, 3324 (1922).

[5]) *F. Reindel, K. Niederländer*, B. **68**, 1969 (1935).

[6]) *P. N. Chakravorty, E. S. Wallis*, Am. Soc. **62**, 318 (1940).

[7]) *H. Wieland, E. Dane, E. Scholz*, Z. physiol. Ch. **211**, 261 (1932); *K. Kyogoku*, Z. physiol. Ch. **246**, 99 (1937).

äthylat in die ungesättigte Säure (XVII) übergeführt wurde, während sie beim Erwärmen der bromierten Säure mit Natriumacetat in Eisessig[1]) keine brauchbaren Resultate erzielen konnten. Die so erhaltene 3α-Oxy-12-keto-cholen-(9)-säure (XVII) schmolz bei 172—173° und zeigte im U.V.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei 242,5 mμ, wobei leider weder das verwendete Lösungsmittel noch die Höhe des Absorptionsmaximums angegeben ist. Der bei der Verbrennung gefundene Wasserstoffwert stimmt aber besser auf die Formel $C_{24}H_{38}O_4$ der gesättigten Säure (entspr. (I)). Das so gewonnene Präparat wurde ins Semicarbazon übergeführt und dieses nach *Wolff-Kishner* mit Natriumäthylat erhitzt. Es entstand dabei eine Säure, die bei 183 bis 184° schmolz, eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{25} = +27°$ (abs. Alkohol) zeigte und der die Formel (VII) zugeschrieben wurde. Die Analysenwerte stimmen sowohl für die berechnete Formel $C_{24}H_{38}O_3$, wie für die gesättigte Lithocholsäure (XI) $C_{24}H_{40}O_3$. Da das benützte Verfahren, wie weiter unten gezeigt wird, stets zu Mischpräparaten führt, so muss es sich auch bei der Säure von *Chakravorty* und *Wallis* um ein Mischkrystallisat gehandelt haben. Der gefundene Wert für die spez. Drehung spricht dafür, dass es vorzugsweise Lithocholsäure (XI) enthalten hat, die bei 185° schmilzt und eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +32{,}1°$ (abs. Alkohol) aufweist[2]), während wir für reine Säure (VII) $[\alpha]_D^{13{,}5} = +46{,}9°$ (abs. Alkohol) fanden.

Bevor wir andere Methoden zur Bereitung der Säure (VII) versuchten, wollten wir prüfen, ob sie sich auf dem von *Chakravorty* und *Wallis* beschriebenen Wege gewinnen lässt. Die von ihnen als Zwischenprodukt benötigte Säure (XVII) bzw. ihr Acetat (V) ist kurz vorher von *Longwell* und *Wintersteiner*[3]) bereitet worden. Diese Autoren betonen bereits, wie wichtig es ist, die bromierte Säure in möglichst reiner Form zu verwenden, um gute Ergebnisse zu erhalten. Es ist ihnen zwar nicht gelungen, die 3α-Acetoxy-11-brom-12-ketocholansäure (III) bzw. (XIV), die erstmals von *Marker* und *Lawson*[4]) in unreiner Form bereitet wurde, zu krystallisieren. Sie reinigten sie jedoch, bis das amorphe Produkt den richtigen Bromgehalt zeigte. Aus dieser Bromsäure konnten sie durch Erhitzen mit Natriumacetat in Eisessig die Ketosäure (V) vom Smp. 201° in hoher Reinheit erhalten, denn sie zeigte im U.V.-Absorptionsspektrum in Alkohol ein Maximum bei 241 mμ und $\varepsilon = 9000$ (entspr. $\log \varepsilon = 3{,}954$). Die Höhe des Maximums ist nämlich als das bisher beste Kriterium für die Reinheit dieses Stoffes und seiner Derivate anzusehen. Bei der oben erwähnten Schwierigkeit, die die Reinigung der Säuren (VII) und (VIII) sowie ihrer Methylester bereitet, ist es zumindest wünschenswert, von möglichst reiner Säure (V) oder (XVII) auszugehen, denn

[1]) Vgl. *J. Barnett, T. Reichstein*, Helv. **21** 926 (1938).
[2]) *H. Fischer*, Z. physiol. Ch. **73**, 204 (1911).
[3]) *B. B. Longwell, O. Wintersteiner*, Am. Soc. **62**, 200 (1940).
[4]) *R. E. Marker, E. J. Lawson*, Am. Soc. **60**, 1334 (1938).

wenn sie noch gesättigte 12-Ketosäure (I) enthält, so entsteht aus dieser bei der *Wolff-Kishner*-Reduktion Lithocholsäure (XI), welche aus dem gesuchten Endprodukt (VII) kaum mehr zu entfernen ist.

Eine Voraussetzung für die Bereitung reiner Säure (VII) ist somit die Benützung reinster Säure (XVII). Die Gewinnung dieser Säure in wirklich reiner Form erwies sich als schwieriger als vermutet wurde. Unumgänglich war es vor allem, dabei von reiner Bromsäure (III) bzw. (XIV) auszugehen, denn falls dieses Material noch ungebromte Säure (I) enthält, so verbleibt diese im entbromten Produkt (XVII) bzw. (V) und ist daraus kaum mehr zu entfernen. Wir begegnen hier nämlich wiederum einer durch Isomorphie verursachten Schwierigkeit. Wie aus folgender Tabelle II zu entnehmen ist, zeigt die Säure (XVII) fast denselben Schmelzpunkt wie die gesättigte 3α-Oxy-12-keto-cholansäure, und die beiden geben bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung. Dasselbe ist bei den acetylierten Säuren sowie den entsprechenden Methylestern der Fall.

Tabelle II.

	3α-Oxy-12-keto-cholansäure	3α-Oxy-12-keto-cholen-(9)-säure	Mischprobe[12])
Freie Oxysäuren	Smp. unkorr. 160—161° [2] [3] [4] [5] [6] [7] [8] [9] $[\alpha]_D^{18} = +94{,}4^0 \pm 2^0$ (Aceton)[12])	(XVII) Smp. unkorr. 172-173° [9] Smp. korr. 173-174° [12] $[\alpha]_D^{18} = +96{,}1^0 \pm 4^0$ (Aceton)[12])	159-165° [13])
Methylester der freien Oxysäuren	Smp. korr. 111—112° [7] $[\alpha]_D^{14{,}5} = +96{,}5^0 \pm 1{,}5^0$ (Aceton)[10])	(XVIII) Smp. korr. 114-115° [12] $[\alpha]_D^{14} = +93{,}2^0 \pm 2^0$ (Aceton)[12])	110-113°
Acetylierte Säuren	(I) Smp. unkorr. 197—198° [11] [4] [5] [1] [8] Smp. korr. 199—200° [12] $[\alpha]_D^{18} = +102{,}2^0 \pm 2^0$ (Aceton)[12])	(V) Smp. unkorr. 201° [8] Smp. korr. 205—206° [12] $[\alpha]_D^{18} = +99{,}2^0 \pm 2^0$ (Aceton)[12])	203-205°
Methylester der acetylierten Säuren	(II) Smp. korr. 154° [10] $[\alpha]_D^{21} = +104{,}8^0 \pm 1{,}5^0$ (Aceton)[10])	(VI) Smp. korr. 145—147° [12] $[\alpha]_D^{18} = +101{,}4^0 \pm 1{,}5^0$ (Aceton)[12])	147-153°

[1]) *R. E. Marker, E. J. Lawson*, Am. Soc. **60**, 1334 (1938).
[2]) *H. Wieland, E. Boersch*, Z. physiol. Ch. **106**, 190 (1919).
[3]) *W. Borsche, F. Hallwass*, B. **55**, 3318 (1922).
[4]) *K. Kyogoku*, Z. physiol. Ch. **246**, 99 (1937).
[5]) *K. Kaziro, T. Shimada*, Z. physiol. Ch. **249**, 220 (1937).
[6]) *S. Bergström, G. A. D. Haslewood*, Soc. **1939**, 540.
[7]) *J. Sawlewicz, T. Reichstein*, Helv. **20**, 992 (1937).
[8]) *B. B. Longwell, O. Wintersteiner*, Am. Soc. **62**, 200 (1940).
[9]) *P. N. Chakravorty, E. S. Wallis*, Am. Soc. **62**, 318 (1940).
[10]) *T. Reichstein, M. Sorkin* Helv. **25**, 797 (1942).
[11]) *H. Wieland, E. Dane, E. Scholz*, Z. physiol. Ch. **211**, 261 (1932).
[12]) Vgl. Exp. Teil dieser Arbeit.
[13]) *Chakravorty* und *Wallis* [9]) geben an, dass dieses Gemisch eine Schmelzpunktserniedrigung liefert.

Um ganz sicher zu gehen, versuchten wir die Bromsäure selbst zu krystallisieren. Mit ziemlicher Mühe und in schlechter Ausbeute gelang es, die zwei theoretisch zu erwartenden raumisomeren Bromsäuren (III) und (XIV), die wir als 3α-Acetoxy 11α-brom-12-keto-cholansäure (III) und als 3α-Acetoxy-11β-brom-12-keto-cholansäure (XIV) bezeichnen, in krystallisierter Form zu gewinnen und daraus die ebenfalls gut krystallisierten Methylester (IV) und (XV) zu bereiten. Diese Ester schmelzen zwar fast gleich, geben aber bei der Mischprobe sowohl unter sich, wie mit dem unbromierten Ester (II) deutliche Schmelzpunktserniedrigungen. Sie lassen sich ferner auch chromatographisch reinigen und voneinander trennen, sodass sie weitgehend Gewähr für Einheitlichkeit bieten. Es zeigte sich, dass die Bromwasserstoffabspaltung bei den zwei raumisomeren Estern sehr verschieden leicht erfolgt[1]). Während der 11α-Bromester (IV) durch zweistündiges Kochen mit Pyridin praktisch nicht verändert wird, tritt beim 11β-Bromester (XV) unter diesen Bedingungen schon völlige Entbromung ein unter Bildung des Esters (VI), der auf diesem Wege in der bisher reinsten Form erhalten wurde. Den besten Anhaltspunkt hierfür bietet das Ultraviolett-Absorptionsspektrum, das in alkoholischer Lösung ein Maximum bei 241 mμ und log ε = 4,06 (entspr. ε = ca. 11500) zeigte[2]). Auch beim 11α-Bromester konnte die Bromwasserstoffabspaltung erzwungen werden, entweder durch Kochen mit Kollidin oder durch Erhitzen mit Natriumacetat in Eisessig. Es entstand dabei derselbe Ester (VI), der zwar gleich schmolz wie der aus (XV) mit Pyridin bereitete, aber im U.V.-Absorptionsspektrum ein etwas weniger hohes Maximum, im besten Fall nämlich log ε = 3,95 (entspr. ε = ca. 8910) zeigte, somit noch mindestens 22,5 % einer Verunreinigung, wahrscheinlich (II) enthielt. (II) und (VI) sind wie erwähnt isomorph und lassen sich daher schwer trennen. Nimmt man an, dass die Bromwasserstoffabspaltung dann leicht erfolgt, wenn sich das Brom- und das austretende Wasserstoffatom in trans-Stellung zueinander befinden[3]), so ergibt sich unter Zugrundelegung des heute nach *Ruzicka*[4]) als wahrscheinlichst anzusehenden Baues des Ringgerüstes für den leicht zu entbromenden Ester die Formel (XV). Das Bromatom ist dabei vor der Tafelebene zu denken und der Ester in Verallgemeinerung des Nomenklaturvorschlags von *Fieser*[5]) als 11β-Bromester zu bezeichnen. Der schwer zu

[1]) Vgl. auch die analogen Beobachtungen bei den zwei 11-Brom-12-keto-cholansäure-estern, *H. B. Alther, T. Reichstein*, Helv. **26**, 492 (1943).

[2]) Diese und die folgenden Messungen verdanken wir Hrn. Dr. *H. Mohler*, Zürich.

[3]) Vgl. *H. B. Watson*, „Modern Theories of Organic Chemistry" 2. Edit., Oxford 1941, p. 223.

[4]) *L. Ruzicka, M. Furter, G. Thomann*, Helv. **16**, 327 (1933); *L. Ruzicka, H. Brüngger, E. Eichenberger, J. Meyer*, Helv. **17**, 1407 (1934).

[5]) *L. F. Fieser* „The Chemistry of Natural Products related to Phenanthrene". 2. Edit. New York 1937, p. 399.

entbromende Ester wird dementsprechend 11α-Bromester genannt und mit punktiertem Valenzstrich nach (IV) formuliert. Leider sind die Ausbeuten an reinem (XV) recht bescheiden, sodass für die folgenden Versuche zur Hauptsache (IV) benützt werden musste, der, wie erwähnt, weniger reinen Ester (VI) liefert. Die Uneinheitlichkeit solcher Präparate war aber nunmehr wenigstens bekannt und konnte bei der Beurteilung der weiteren Resultate berücksichtigt werden.

Da uns die Bereitung des Semicarbazons aus dem Ester (VI) nicht gelang (wohl wurden solche aus den Säuren (V) und (XVII) erhalten) und dieses zudem keine besonderen Vorteile verspricht, wurde zur Reduktion nach *Wolff-Kishner* der Ester (VI) direkt[1]) mit überschüssigem Hydrazinhydrat und Natriumäthylat auf 170° erhitzt, wobei ein Säuregemisch entstand, das zur besseren Charakterisierung methyliert und acetyliert wurde. Der so entstehende, gut krystallisiernde acetylierte Methylester schmolz bei 134—136°, zeigte mit Tetranitromethan deutliche Gelbfärbung und gab Analysenwerte, die gut auf die Formel $C_{27}H_{42}O_4$ passten. Obwohl dieses Krystallisat einen durchaus einheitlichen Eindruck machte, dürfte es doch zumindest aus den drei Estern (IX), (XX) und (XIII) bestanden haben, denn nach Behandlung mit Benzopersäure liessen sich durch chromatographische Trennung drei Stoffe isolieren, nämlich (XIII), (XIX)[2]) und in reichlicher Menge ein neuer Oxydoester, der, wie sich später zeigte, den 3α-Acetoxy-(9,11)-oxydo-cholansäure-methylester (X) darstellt. Derselbe Oxydo-ester (X) entstand nämlich in fast quantitativer Ausbeute bei der Einwirkung von Benzopersäure auf ein reines Präparat von (IX), das auf anderem Wege erhalten wurde und dessen Konstitution sichergestellt werden konnte. (Vgl. weiter unten.) Von den drei Stoffen (IX), (XX) und (XIII), die somit bei der *Wolff-Kishner*-Reaktion entstehen, dürfte (XIII) seine Bildung der Anwesenheit von (II) im verwendeten Ausgangsmaterial (VI) verdanken, da wir mit einem nicht ganz reinen Präparat von (VI) arbeiten mussten. Diese Vermutung liess sich durch Wiederholung des Versuchs mit reinstem (VI) weitgehend stützen. Wir konnten dazu eine kleine Menge des Präparates verwenden, dessen U.V.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei 241 mμ und log ε = 4,06 (in Alkohol) zeigte. Die *Wolff-Kishner*-Reduktion und anschliessende Methylierung und Acetylierung gaben wieder ein Präparat vom Smp. 134—136°, aus dem aber bei der Einwirkung von Benzopersäure zur Hauptsache (X) und wenig (XIX) entstand. Der Ester (XIII) konnte dabei nicht aufgefunden werden. Das Krystallisat vom Smp. 134—136°, das das reinste bisher auf diesem Wege erhältliche Präparat darstellt, enthielt in diesem Falle somit zur Hauptsache (IX) und wenig (XX). Aus den Ausbeuten bei der Umsetzung mit Benzopersäure schätzen wir

[1]) Vgl. *J. O. Dutcher, O. Wintersteiner*, Am. Soc. **61**, 1992 (1939).
[2]) *J. Press, T. Reichstein*, Helv. **25**, 878 (1942).

den Anteil von (IX) auf etwa 60—70%. Durch Hydrierung eines solchen Präparates wurde erwartungsgemäss reiner Acetyl-lithocholsäure-methylester (XIII) erhalten.

Es wurde noch versucht, aus solchen Gemischen den Ester (IX) über das Dibromid abzutrennen, was aber nicht gelang. Beim Behandeln mit Brom in Chloroform wurde das Brom zwar sofort verbraucht, doch trat bereits bei tiefer Temperatur (0—10°) reichliche Abspaltung von Bromwasserstoff ein, und aus dem entstehenden Gemisch liess sich nur das Dibromid von (XX) in Krystallen gewinnen.

Ein wirklich reines Präparat von 3α-Acetoxy-cholen-(9)-säure-methylester (IX) liess sich schliesslich durch Wasserabspaltung aus 3α-Acetoxy-11α-oxy-cholansäure-methylester (XXI)[1]) mit Thionylchlorid oder Phosphoroxychlorid in Pyridin bei Zimmertemperatur bereiten. Der reine Ester (IX) schmolz bei 138—140° und zeigte die spez. Drehung: $[\alpha]_D^{14} = +62{,}9°$ (Aceton). Eine fast gleiche spez. Drehung zeigte das nach *Wolff-Kishner* aus (VI) gewonnene Mischkrystallisat vom Smp. 134—136°, sodass also die Drehung für die Beurteilung der Reinheit nicht brauchbar ist. Die Einheitlichkeit des Präparates ergab sich aus der bereits erwähnten Tatsache, dass bei der Einwirkung von Benzopersäure daraus einheitlicher Oxydo-ester (X) entstand. Die Konstitution von (IX) liess sich durch Oxydation mit Chromsäure beweisen, wobei in recht guter Ausbeute der eingangs beschriebene 3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI) erhalten wurde.

Der reine Ester (IX) gab bei der Mischprobe weder mit (XX) noch mit (XIII) eine Schmelzpunktserniedrigung, was dafür spricht, dass die 3 Ester isomorph sind. Dies erklärt auch die Schwierigkeit der Trennung.

Die auffallend leichte Abspaltbarkeit einer in 11-Stellung des Steringerüsts haftenden Hydroxylgruppe durch Erwärmen mit Salzsäure ist bereits vor einiger Zeit beobachtet worden[2])[3]). Es wurde damals angenommen, dass dabei vorzugsweise Dehydratisierungsprodukte mit einer Doppelbindung in 11,12-Stellung entstehen. Aus dem hier mitgeteilten Befund ist jedoch zu schliessen, dass sich in den Stoffen, die damals als Hauptprodukte erhalten wurden, die Doppelbindung ebenfalls in 9,11-Stellung befindet. Auch beim 3α-Acetoxy-11α-oxy-cholansäure-methylester (XXI) lässt sich durch kurzes Kochen mit Salzsäure in Eisessig die Wasserabspaltung erzielen. Es entsteht wieder zur Hauptsache der Ester (IX), der aber etwas weniger rein ist als der nach dem oben erwähnten Verfahren bereitete[4]).

[1]) Vgl. 23. Mitteilung dieser Reihe, *A. Lardon, T. Reichstein*, Helv. **26**, 586 (1943).

[2]) *C. W. Shoppee*, Helv. **23**, 740 (1940).

[3]) *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, Helv. **24**, 351 (1941).

[4]) Von Hrn. Dr. *C. W. Shoppee* wurde beobachtet, dass die Wasserabspaltung auch recht glatt bei 16stündigem Stehen in Eisessig-Essigsäure-anhydrid und wenig Borfluorid bei Zimmertemperatur erfolgt.

Es wurde noch versucht, den Oxydo-ester (X) mit *Raney*-Nickel unter Druck zu reduzieren[1]). Nach mehrstündiger Einwirkung bei 100° und 120 Atmosphären ergab die Aufarbeitung nach Reacetylierung und chromatographischer Trennung neben unverändertem (X) ein Krystallisat, das bei 132—136°, also sehr ähnlich wie der rohe Methylester (IX) schmolz, mit diesem bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte und sich gegenüber Tetranitromethan als ungesättigt erwies. Da es wenig wahrscheinlich ist, dass sich unter den genannten Bedingungen aus (X) der Ester (IX) direkt zurückbildet, nehmen wir an, dass zunächst der 9-Oxy-ester entsteht und aus diesem dann Wasser abgespalten wird. In dem Produkt könnte auch der 8,9-ungesättigte Ester enthalten sein, der voraussichtlich schwer hydrierbar ist.

Saure Verseifung des acetylierten Esters (VI) durch eintägiges Stehen mit 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure lieferte den 3α-Oxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (XVIII). Durch Oxydation mit Chromsäure wurde daraus der 3,12-Diketo-cholen-(9)-säure-methylester (XVI) bereitet, der bei 131—132°, also fast genau wie der gesättigte 3,12-Diketo-cholansäure-methylester (Smp. 132—133°) schmilzt und bei der Mischprobe mit diesem keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte. Die spez. Drehung ist allerdings deutlich verschieden, so dass sich reine Präparate (nicht aber Gemische) durch Bestimmung der spez. Drehung voneinander unterscheiden lassen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1) Die Bereitung der zwei raumisomeren 3α-Acetoxy-11-brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV) und (XV) wird beschrieben.

2) Durch Bromwasserstoffabspaltung des in kleiner Menge entstehenden labilen Isomeren (XV) lässt sich ein Präparat von 3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI) gewinnen, das wir als rein ansehen, da es im U.V.-Absorptionsspektrum ein besonders hohes Maximum zeigt.

3) Reiner 3α-Acetoxy-cholen-(9)-säure-methylester (IX) liess sich bisher nur durch Wasserabspaltung aus 3α-Acetoxy-11α-oxy-cholansäure-methylester (XXI) gewinnen.

4) Die Bereitung dieses Stoffes bzw. der 3α-Oxy-cholen-(9)-säure (VII) gelingt zwar prinzipiell auch auf dem von *Chakravorty* und *Wallis* beschriebenen Wege durch Reduktion von 3α-Oxy-12-keto-cholen-(9)-säure (XVII) bzw. ihrer Ester nach *Wolff-Kishner*. Dabei entstehen aber auch aus dem reinsten Ester (VI) neben (VII) noch die isomere in 11,12-Stellung ungesättigte Säure (entspr. Formel (XX)) und vielleicht noch geringe Mengen anderer Isomerer. Aus

[1]) Über analoge Reaktionen vgl. *H. B. Alther, T. Reichstein*, Helv. **25**, 805 (1942), sowie *J. Press, T. Reichstein*, Helv. **25**, 878 (1942).

nicht ganz reinem (VI), wie er meistens verwendet werden muss, entsteht gleichzeitig noch Lithocholsäure (XI).

5) Die drei Säuren (VII), (XX) und (XI) lassen sich auch in veresterter Form kaum voneinander trennen. In Gemischen der drei Säuren lässt sich der Gehalt an jeder Komponente durch Umsetzung der acetylierten Methylester mit Benzopersäure und anschliessende chromatographische Trennung ermitteln.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert (Fehlergrenze ca. $\pm 2^0$).

3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure (I)[1–5].

17 g im Vakuum getrocknete 3α-Oxy-12-keto-cholansäure (bereitet nach *Reichstein* und *Sorkin*[6]) wurden in 50 cm³ Eisessig gelöst, mit 10 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Zur siedenden Lösung wurden hierauf 70 cm³ Wasser zunächst tropfenweise, dann rascher zugegeben, die Mischung unter öfterem Umschütteln erkalten gelassen und die bald einsetzende Krystallisation durch vorsichtigen Zusatz von weiteren 30 cm³ Wasser und längeres Stehen bei 0° möglichst vervollständigt. Die abgenutschten Krystalle wurden mit 40-proz. Essigsäure gewaschen, im Vakuum getrocknet und aus Aceton-Äther umkrystallisiert, wobei 18 g farbloser Nadeln resultierten, die bei 198—200° schmolzen. Eine nochmals umkrystallisierte Probe schmolz bei 199—200° in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *Wieland* und Mitarbeitern[1]). Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +102{,}2^0 \pm 1{,}5^0$ (c = 1,4679 in Aceton).

14,670 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +1{,}5^0 \pm 0{,}02^0$.

3α-Acetoxy-11β-brom-12-keto-cholansäure (XIV).

Bei der Bromierung hielten wir uns weitgehend an die Angaben von *Longwell* und *Wintersteiner*[5]). 10,5 g 3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure wurden in einem mit eingeschliffenem Rückflusskühler und Glasrührer versehenen Kolben in 40 cm³ gegen Chromsäure beständigem Eisessig gelöst, mit einem Tropfen 30-proz. Bromwasserstoffsäure-Eisessiglösung versetzt und bei 75° Badtemperatur im Laufe von 4 Stunden unter leichtem Rühren durch einen bis fast auf den Boden des Kolbens führenden Tropftrichter die Lösung von 1,5 cm³ Brom (= 1,5 Mol) in 40 cm³ Eisessig zugetropft. Anschliessend wurde ohne zu rühren noch 4 Stunden weiter erwärmt, hierauf das überschüssige Brom durch Evakuieren bei 30° Badtemperatur möglichst entfernt

[1]) *H. Wieland, E. Dane, E. Scholz,* Z. physiol. Ch. **211**, 261 (1932).
[2]) *K. Kyogoku,* Z. physiol. Ch. **246**, 99 (1937).
[3]) *K. Kaziro, T. Shimada,* Z. physiol. Ch. **249**, 220 (1937).
[4]) *R. E. Marker, E. J. Lawson,* Am. Soc. **60**, 1334 (1938).
[5]) *B. B. Longwell, O. Wintersteiner,* Am. Soc. **62**, 200 (1940).
[6]) *T. Reichstein M. Sorkin,* Helv. **25**, 797 (1942).

und das Reaktionsgemisch unter kräftigem Rühren in 800 cm³ Eiswasser eingegossen, wobei ein gelblicher, flockiger Niederschlag ausfiel. Dieser wurde nach einstündigem Stehen bei 0° abgenutscht, mehrmals mit Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator über Calciumchlorid getrocknet. Das krümelige Produkt wurde hierauf im Mörser fein verrieben und im Vakuum bei 50° vollständig getrocknet. Die Ausbeute an diesem rohen Gemisch betrug 12,5 g.

Ist man im Besitz von reiner β-Bromsäure (XIV), so gelingt es oft, einen kleinen Teil direkt abzuscheiden. 12 g des obigen rohen Bromierungsproduktes wurden zu diesem Zweck in etwa 15 cm³ absolutem Äther gelöst, mit einem Tropfen Eisessig versetzt, mit einer Spur hochschmelzender Bromsäure (XIV) beimpft und einen Tag bei 18° stehen gelassen. Die hierauf abfiltrierten und mit Äther gewaschenen Krystalle schmolzen bei 218—222° und wogen 230 mg. Die Mutterlaugen wurden unter vorsichtigem Erwärmen und Umschwenken langsam mit Petroläther versetzt, bis keine weitere Trübung mehr eintrat, und so lange stehen gelassen, bis sich die überstehende Lösung geklärt hatte. Hierauf wurde sie abgegossen und die harzige Fällung erneut aus Äther mit Petroläther umgefällt. Diese Operation wurde insgesamt zehnmal ausgeführt, wofür etwa 1,5 Liter Petroläther nötig waren. Die letzte harzige Fällung wird zweckmässig mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und das methylierte Produkt chromatographisch getrennt (vgl. weiter unten).

Die vereinigten Äther-Petrolätherlösungen wurden eingedampft (zuletzt im Vakuum) und der Rückstand (6 g) in 15 cm³ absolutem Äther gelöst, mit einem Tropfen Eisessig versetzt und nach Impfen mit β-Bromsäure (XIV) 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die ausgeschiedenen langen Nadeln wurden mit Äther gewaschen. Sie schmolzen bei 216—222° und wogen 0,6 g. Die Mutterlaugen wurden eingedampft (zuletzt im Vakuum), der Rückstand in 240 cm³ Eisessig gelöst und unter starkem Schütteln allmählich mit 170 cm³ Wasser versetzt, wobei ein hellbraunes Harz ausfiel (2,5 g), das wieder für die Methylierung und chromatographische Trennung verwendet werden konnte. Die klare Lösung wurde mit Wasser bis zur starken Trübung versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen, worauf sich nadelige Krystalle abschieden, die nach dem Abnutschen und Trocknen bei 170—220° schmolzen und 0,7 g wogen (Krystallisat I). Die Mutterlaugen wurden erneut bis zur starken Trübung mit Wasser versetzt und wiederum 16 Stunden bei 18° stehen gelassen und dieses Verfahren nach Abnutschen der ausgeschiedenen Krystalle noch zweimal wiederholt, wobei die folgenden drei Krystallisate resultierten:

Krystallisat II = 0,8 g körnige Krystalle vom Smp. 140—170°
„ III = 0,95 g breite, kurze Nadeln vom Smp. 178—180°
„ IV = 0,35 g breite, kurze Nadeln vom Smp. 177—180°

Die geringen in der Mutterlauge verbliebenen Reste wurden mit viel Wasser gefällt und das so gewonnene Material zur Veresterung und chromatographischen Trennung verwendet.

Das Krystallisat I (0,7 g) lieferte beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 0,22 g der β-Säure (XIV) vom Smp. 220—222°. Die Mutterlaugen sowie das Mischkrystallisat II wurden zur Methylierung und chromatographischen Trennung verwendet. Die Krystallisate III und IV lieferten die α-Säure (III).

Die 1,05 g β-Säure (XIV) wurden in viel Äther gelöst und die filtrierte Lösung auf ein kleines Volumen eingeengt, wobei farblose feine Nadeln auskrystallisierten, die nach dem Waschen mit Äther und Trocknen im Hochvakuum bei 220—222° schmolzem. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = +39{,}2^0 \pm 2^0$ (c = 1,0466 in Aceton).

10,460 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0{,}41^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

3,814 mg Subst. gaben 8,37 mg CO_2 und 2,58 mg H_2O (E.T.H.)
4,751 mg Subst. gaben 1,65 mg AgBr (E.T.H.)
$C_{26}H_{39}O_5Br$ (511,56) Ber. C 61,04 H 7,65 Br 15,62%
Gef. „ 59,89 „ 7,57 „ 14,98%

Sofern kein Analysenfehler vorliegt, war die Substanz anscheinend nicht trocken; die gefundenen Werte würden auf ½ Mol Krystallwasser passen. (Ber. C 59,98, H 7,74, Br 15,37%.)

Die Mischprobe mit der bei 200° schmelzenden 3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure (I) schmolz bei 197—220°, gab also keine deutliche Schmelzpunktserniedrigung.

Zur Gewinnung der ersten Impfkrystalle wurde das rohe Bromierungsprodukt wie beschrieben mehrmals aus Äther mit Petroläther umgefällt und die dabei in Lösung gebliebenen Anteile fraktioniert aus Eisessig-Wasser, dann aus Äther umkrystallisiert. Dies Verfahren gelingt meistens, aber nicht immer, da bei der Bromierung stets zur Hauptsache die α-Bromsäure (III) entsteht.

3α-Acetoxy-11α-brom-12-keto-cholansäure (III).

Die tiefer schmelzenden Anteile (Krystallisate (III) und (IV)), die bei der fraktionierten Krystallisation der rohen Bromsäure erhalten wurden, gaben nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Eisessig-Wasser farblose Nadeln, die bei 179—182° schmolzen. Sie wurden zur Analyse im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

4,780 mg Subst. gaben 10,690 mg CO_2 und 3,27 mg H_2O (*Sch.*)
$C_{26}H_{39}O_5Br$ (511,56) Ber. C 61,04 H 7,65%
Gef. „ 61,06 „ 7,69%

Es ist nicht ganz sicher, ob das Präparat völlig frei vom Isomeren war, doch gab die Methylierung leicht reinen α-Bromester. Die Säure gibt bei der Mischprobe mit der bei 200° schmelzenden 3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure (I) eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Die Mischung schmolz bei 158—164°.

3α-Acetoxy-11β-brom-12-keto-cholansäure-methylester (XV) aus reiner Säure (XIV).

0,7 g 3α-Acetoxy-11β-brom-12-keto-cholansäure (XIV) vom Smp. 220—222° wurden in viel absolutem Äther gelöst, mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 10 Minuten bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und stark eingeengt. Beim Stehen schieden sich 0,45 g farblose, längliche Blättchen ab, die bei 158—161° schmolzen. Die Mutterlauge gab beim Einengen noch weitere 0,15 g derselben Reinheit. Einmaliges Umkrystallisieren aus Äther gab farblose, längliche Blättchen oder flache Nadeln, die bei 160—161° schmolzen und im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet wurden. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +37{,}5^0 \pm 1^0$ (c = 2,211 in Chloroform).

22,100 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0{,}83^0 \pm 0{,}02^0$
4,022 mg Subst. gaben 9,130 mg CO_2 und 2,870 mg H_2O (*Sch.*)
5,640 mg Subst. gaben 2,080 mg AgBr (*Sch.*)
$C_{27}H_{41}O_5Br$ (525,59) Ber. C 61,72 H 7,87 Br. 15,21%
Gef. „ 61,95 „ 7,98 „ 15,70%

Der Ester gibt bei der Mischprobe mit dem bei 155° schmelzenden 3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure-methylester (II)[1]) eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung.

3α-Acetoxy-11α-brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV) aus reiner Säure (III).

2,4 g 3α-Acetoxy-11α-brom-12-keto-cholansäure (III) vom Smp. 179—182° wurden, wie bei der 11β-Bromsäure beschrieben, mit Diazomethan methyliert und das Rohprodukt mehrmals aus Äther-Petroläther umkrystallisiert, wobei 1,13 g farblose Blättchen resultierten, die bei 100—101° schmolzen. Die unreinen Teile wurden chromatographisch nach der Durchlaufmethode über Aluminiumoxyd gereinigt, wobei das reine Material sich mit Benzol-Petroläther sowie mit absolutem Benzol eluieren liess. Hierauf wurden nach einmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther noch 0,34 g reiner Ester vom Smp. 100—101° erhalten. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 20° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{19} = +47{,}3^0 \pm 2^0$ (c = 1,121 in Chloroform).

11,202 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0{,}53^0 \pm 0{,}02^0$
3,700 mg Subst. gaben 8,33 mg CO_2 und 2,63 mg H_2O (E.T.H.)
9,351 mg Subst. gaben 3,378 mg AgBr (E.T.H.)
$C_{27}H_{41}O_5Br$ (525,59) Ber. C 61,71 H 7,86 Br 15,21%
Gef. „ 61,44 „ 7,95 „ 15,37%

Nach einigen Wochen schmolz das Präparat bei 159—161° und krystallisierte aus Äther-Petroläther in groben Nadeln, die denselben

[1]) *M. Sorkin, T. Reichstein*, Helv. **25**, 797 (1942).

Schmelzpunkt zeigten. Bei einer erneuten Herstellung konnte nur noch die hochschmelzende Modifikation gewonnen werden. Sie gab bei der Mischprobe mit dem fast gleich schmelzenden β-Bromester (XV) eine deutliche Schmelzpunktserniedrigung, ebenso mit dem bei 155° schmelzenden 3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure-methylester (II)[1].

11α-Brom-ester (IV) und 11β-Brom-ester (XV) aus rohem Gemisch und aus Mutterlaugen.

Da die Gewinnung der 11β-Bromsäure (XIV) nicht immer reproduzierbar ist, kann der Ester (XV) auch direkt aus dem rohen Bromierungsprodukt isoliert werden, doch ist die Ausbeute immer sehr gering. In grösseren Mengen wird dabei der α-Ester (IV) erhalten, zu dessen Herstellung diese Methode am bequemsten ist.

3 g rohe 3α-Acetoxy-11-brom-12-keto-cholansäure (Gemisch) wurden mit Diazomethan methyliert und das rohe Methylestergemisch nach der Durchlaufmethode über 80 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographisch in etwa 20 Fraktionen aufgeteilt, wobei für jede Fraktion 150 cm³ Lösungsmittel verwendet wurden.

Die ersten mit Benzol-Petroläther (1 : 3) erhaltenen Fraktionen lieferten wenig Krystalle, die sich als 3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure-methylester (II) erwiesen. Zwei weitere, mit Benzol-Petroläther (1 : 1) eluierte Fraktionen gaben beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 80 mg β-Bromester (XV) als feine flache Nadeln vom Smp. 160 bis 161° (Mischprobe). Aus zwei weiteren Fraktionen wurden Gemische erhalten. Die folgenden, mit Benzol-Petroläther (1 : 1) sowie die mit absolutem Benzol eluierbaren Anteile lieferten nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 230 mg α-Bromester (IV) in Form grober Nadeln vom Smp. 159—161° (Mischprobe).

Ganz analog können auch die Mutterlaugen der krystallisierten Bromsäuren sowie die beim Umfällen der rohen Säure mit Äther-Petroläther erhaltenen unlöslichen Anteile verarbeitet werden. Der 11α-Bromester (IV) wird immer erhalten, der 11β-Bromester (XV) jedoch nicht immer und stets nur in kleinen Mengen.

3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI).

a) Reinstes Präparat aus 3α-Acetoxy-11β-brom-12-keto-cholansäure-methylester (XV) mit Pyridin. 950 mg 3α-Acetoxy-11β-brom-12-keto-cholansäure-methylester (XV) vom Smp. 160—161° wurden in 5 cm³ absolutem Pyridin gelöst und 6 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten wurde das gelbliche Reaktionsprodukt mit verdünnter Schwefelsäure versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die schwefelsaure Lösung enthielt

[1]) *M. Sorkin, T. Reichstein*, Helv. **25**, 797 (1942).

reichlich Brom-ionen. Die Ätherlösung wurde mehrmals mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, auf ein kleines Volumen eingeengt und mit Petroläther versetzt. Beim Stehen krystallisierten 650 mg farbloser Nadeln vom Smp. 145—147°. Die Mutterlauge lieferte nach Einengen noch 140 mg vom gleichen Schmelzpunkt. Zur Analyse wurde nochmals aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 60° getrocknet. Der Schmelzpunkt war unverändert 145—147°. Die spez. Drehung betrug:

$[\alpha]_D^{20} = +110{,}8^0 \pm 2^0$ (c = 0,9923 in Chloroform) bzw. $[\alpha]_D^{18} = +101{,}4^0 \pm 1{,}5^0$ (c = 1,8739 in Aceton).

9,917 mg Subst. zu 0,9994 cm³ ($CHCl_3$); $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +1{,}10^0 \pm 0{,}02^0$

18,728 mg Subst. zu 0,9994 cm³ (Aceton); $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +1{,}9^0 \pm 0{,}02^0$

3,908 mg Subst. gaben 10,43 mg CO_2 und 3,14 mg H_2O (E.T.H.)

$C_{27}H_{40}O_5$ (444,59) Ber. C 72,94 H 9,07%

Gef. „ 72,83 „ 8,99%

Das Präparat zeigte im U.V.-Absorptionsspektrum in Alkohol starke selektive Absorption mit einem Maximum bei 241 mμ und log $\varepsilon = 4{,}06$. Die Mischprobe mit dem fast gleich schmelzenden 3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure-methylester (II) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Da auch die spez. Drehungen von (II) und (VI) sehr ähnlich sind, so stellt die quantitative Ausmessung des U.V.-Absorptionsspektrums den sichersten Weg zur Bestimmung der Reinheit dar. Das Produkt gibt, in wenig Chloroform gelöst, wie andere α,β-ungesättigte Ketone auf Zusatz von Tetranitromethan keine Gelbfärbung.

b) Aus 3α-Acetoxy-11α-brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV) mit Kollidin. 1,5 g 3α-Acetoxy-11α-brom-12-keto-cholansäure-methylester (IV) vom Smp. 159—161° wurden zwei Stunden mit 6 cm³ Kollidin unter Rückfluss gekocht. Die wie bei a) durchgeführte Aufarbeitung gab ein gelbes neutrales Rohprodukt. In der schwefelsauren Lösung liessen sich reichlich Brom-ionen nachweisen. Das krystalline Rohprodukt wurde im Molekularkolben bei 0,01 mm und 200° Badtemperatur destilliert, wobei ein merklicher Kolbenrückstand verblieb, der sich allmählich unter Dunkelfärbung zersetzte. Das hellgelbe, teilweise krystalline Destillat wog 0,93 g und wurde durch Chromatographie über 20 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) gereinigt. Aus den mit Benzol-Petroläther, sowie mit Benzol eluierbaren Anteilen wurden durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 0,45 g farblose lange Nadeln erhalten, die bei 145—147° schmolzen. Die Mischprobe mit dem nach a) bereiteten Vergleichspräparat schmolz ebenso. Das Präparat zeigte im U.V.-Absorptionsspektrum in Alkohol starke selektive Absorption mit einem Maximum bei 240 mμ und log $\varepsilon = 3{,}95$, war also weniger rein als das nach a) bereitete.

Nach 6-stündigem Kochen mit Pyridin liess sich der α-Bromester grösstenteils unverändert zurückgewinnen.

c) Aus rohem Bromierungsprodukt. Ein Präparat, das denselben Schmelzpunkt zeigte, wurde auch erhalten, als das rohe Bromierungsprodukt mit Diazomethanlösung methyliert und das Gemisch der Methylierungsprodukte mit Kollidin verkocht wurde. Der nach chromatographischer Reinigung durch Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther in Form farbloser Nadeln erhaltene Ester schmolz bei 145—147° und gab bei der Mischprobe mit dem nach a) und b) bereiteten keine Schmelzpunktserniedrigung. Das Maximum des in Alkohol aufgenommenen U.V.-Spektrums lag aber bei 240 mμ und log ε 3,85, woraus hervorgeht, dass dies Präparat noch grosse Mengen des gesättigten Esters (II) enthielt.

3α-Oxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (XVIII).

50 mg 3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI) vom Smp. 145—147° wurden in 2 cm³ 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure gelöst und 24 Stunden bei 18° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst und die ätherische Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, auf ein kleines Volumen eingeengt und mit Petroläther versetzt. Die beim Stehen ausgeschiedenen Nadeln (40 mg) wurden nochmals aus Äther-Petroläther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 60° getrocknet. Sie schmolzen bei 115—116° und zeigten die spez. Drehung: $[\alpha]_D^{14}$ = + 93,2° ± 2° (c = 1,0723 in Aceton)

10,716 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l = 1 dm; α_D^{14} = + 1,00° ± 0,02°

Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Vakuum kurz geschmolzen und im Schweinchen eingewogen.

3,821 mg Subst. gaben 10,430 mg CO_2 und 3,22 mg H_2O (E.T.H.)

$C_{25}H_{38}O_4$ (402,54) Ber. C 74,59 H 9,51%
Gef. „ 74,49 „ 9,43%

Das Produkt gab bei der Mischprobe mit dem bei 113—114° schmelzenden gesättigten 3α-Oxy-12-keto-cholansäure-methylester[1]) keine Schmelzpunktserniedrigung. Auch die spez. Drehung ist sehr ähnlich.

Freie Säure (XVII). Die durch kurzes Kochen von (VI) oder (XVIII) mit methylalkoholischer Kalilauge erhältliche freie Säure (XVII) krystallisierte aus Äther in Nadeln vom Smp. 173—174° in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *Chakravorty* und *Wallis*[2]). Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18}$ = + 96,1° ± 5° (c = 0,4577 in Aceton).

4,575 mg Subst. zu 0,9994 cm³; l = 1 dm; α_D^{18} = + 0,44° ± 0,02°

[1]) *M. Sorkin, T. Reichstein*, Helv. **25**, 797 (1942).
[2]) *P. N. Chakravorty, E. S. Wallis*, Am. Soc. **62**, 318 (1940).

Die Mischprobe mit der bei 161° schmelzenden gesättigten 3α-Oxy-12-keto-cholansäure[1]) gab keine Schmelzpunktserniedrigung, während *Chakravorty* und *Wallis* eine solche beobachtet haben.

Semicarbazon der Säure (XVII). 30 mg 3α-Oxy-12-keto-cholen-(9)-säure (XVII) vom Smp. 173—174° wurden mit 0,4 cm³ einer 10-proz. methylalkoholischen Semicarbazid-acetat-Lösung zwei Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde stark eingeengt, mit viel Äther ausgeschüttelt und die mit verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung auf ein kleines Volumen eingeengt, wobei sich ein Krystallpulver ausschied, das nach dem Waschen mit Äther bei 270° unter Zersetzung schmolz und in Äther jetzt praktisch unlöslich war. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

3,22 mg Subst. gaben 0,292 cm³ N_2 (16°; 716 mm) (E.T.H.)
$C_{25}H_{39}O_4N_3$ (445,57) Ber. N 9,43 Gef. N 10,09%

Aus den Methylestern (VI) und (XVIII) konnte ein Semicarbazon nicht erhalten werden.

3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure (V)[2]).

45 mg 3α-Oxy-12-keto-cholen-(9)-säure (XVII) (Rohprodukt) wurden in 3 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,5 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Hierauf wurde 1 cm³ Wasser zunächst tropfenweise zugegeben und noch 5 Minuten weiter gekocht. Dann wurde in der Hitze vorsichtig mit Wasser bis zur beginnenden Trübung versetzt und langsam erkalten gelassen, wobei sich 35 mg feine Blättchen vom Smp. 198—203° ausschieden. Diese wurden aus Äther umkrystallisiert und gaben 25 mg Blättchen vom Smp. 205—206°, in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *B. B. Longwell* und *O. Wintersteiner*[2]). Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +99{,}2^0 \pm 2^0$ (c = 1,0480 in Aceton).

10,474 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +1{,}04^0 \pm 0{,}02^0$

Die Mischprobe mit der bei 200° schmelzenden 3α-Acetoxy-12-keto-cholansäure (I) schmolz bei 203—205°.

3,12-Diketo-cholen-(9)-säure-methylester (XVI).

20 mg 3α-Oxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (XVIII) vom Smp. 115—116° wurden in 0,25 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 0,25 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessiglösung (= 5 mg CrO_3) versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur zum Syrup eingeengt, mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrock-

[1]) *H. Wieland, E. Boersch*, Z. physiol. Ch. **106**, 190 (1919).
[2]) *B. B. Longwell, O. Wintersteiner*, Am. Soc. **62**, 200 (1940).

nete Ätherlösung wurde stark eingeengt und mit Petroläther versetzt, wobei reichliche Krystallisation eintrat. Die farblosen, flachen Nadeln schmolzen nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther bei 131—132° und wogen 10 mg. Sie wurden im Hochvakuum bei 60° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{19} = +71{,}6^0 \pm 2^0$ (c = 0,8658 in Aceton).

8,653 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0{,}62^0 \pm 0{,}02^0$
2,930 mg Subst. gaben 8,051 mg CO_2 und 2,42 mg H_2O (E.T.H.)
$C_{25}H_{36}O_4$ (400,54) Ber. C 74,96 H 9,06%
Gef. „ 74,99 „ 9,24%

Das Produkt gab bei der Mischprobe mit dem genau gleich schmelzenden gesättigten 3,12-Diketo-cholansäure-methylester keine Schmelzpunktserniedrigung, unterscheidet sich von ihm jedoch durch eine um fast 20° niedrigere Drehung[1]).

Reduktion von nicht ganz reinem 3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI) nach *Wolff-Kishner*.

0,5 g 3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI), der aus (IV) bereitet war und im U.V.-Absorptionsspektrum in Alkohol ein Maximum bei 240 mμ und log ε = 3,95 zeigte, wurden in einem Bombenrohr mit 2,5 cm³ Hydrazinhydrat und der Lösung von 0,4 g Natrium in 10 cm³ absolutem Alkohol vermischt, im Vakuum eingeschmolzen und 16 Stunden auf 180° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser versetzt, der Alkohol im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung wurde eingeengt, mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 10 Minuten stehen gelassen. Hierauf wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (0,43 g) wurde in 1,5 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,5 cm³ Essigsäureanhydrid versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung neutral gewaschen, getrocknet, auf ein kleines Volumen eingeengt und mit Petroläther versetzt. Beim Stehen schieden sich 350 mg Nadeln aus. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther gab 275 mg farblose, lange Nadeln, die bei 132—134° schmolzen. Weiteres Umkrystallisieren änderte den Schmelzpunkt nicht mehr merklich. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 60° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13} = +62{,}6^0 \pm 2^0$ (c = 1,1654 in Aceton).

11,647 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0{,}73^0 \pm 0{,}02^0$
3,690 mg Subst. gaben 10,171 mg CO_2 und 3,248 mg H_2O (E.T.H.)
$C_{27}H_{42}O_4$ (430,61) Ber. C 75,32 H 9,83%
Gef. „ 75,22 „ 9,85%

[1]) *A. Lardon, T. Reichstein*, 23. Mitteilung, Helv. **26**, 586 (1943) fanden für 3,12-Diketo-cholansäure-methylester: $[\alpha]_D^{18} = +89{,}3^0 \pm 1{,}5^0$ (c = 1,926 in Aceton).

Das Produkt gab bei der Mischprobe mit dem bei 132 bis 134° schmelzenden Acetyl-lithocholsäure-methylester (XIII)[1]) keine Schmelzpunktserniedrigung, unterscheidet sich von ihm jedoch durch die Gelbfärbung, die seine konz. Chloroformlösung mit Tetranitromethan liefert, ebenso durch die weinrote Färbung, die auf Zusatz eines Tropfens konz. Schwefelsäure zur Eisessiglösung entsteht (*Liebermann*-Reaktion), sowie durch die um 14° höhere Drehung[2]) (in Aceton). Die Mischprobe mit dem bei 116—117° schmelzenden 3α-Acetoxy-cholen-(11)-säure-methylester (XX)[3]) schmolz bei 116—133°, gab also ebenfalls keine Schmelzpunktserniedrigung. Hingegen gibt die Mischprobe mit dem bei 145° schmelzenden (VI) eine kleine, aber deutliche Schmelzpunktserniedrigung. (Die Mischung schmolz bei 125—131°). Trotz des einheitlichen Aussehens dürfte es sich, wie aus dem Ergebnis der Oxydation mit Benzopersäure hervorgeht, um ein Gemisch handeln, das aus (IX), (XX) und (XIII) besteht.

3α-Acetoxy-9,11-oxydo-cholansäure-methylester (X) und Nebenprodukte aus rohem (IX).

250 mg des Krystallisates vom Smp. 132—134° (rohes (IX)) wurden mit der titrierten Lösung von 161 mg Benzopersäure in 5 cm³ Chloroform vermischt und 24 Stunden bei 18° stehen gelassen. Hierauf wurde bei 0° mit einer Lösung von 1 g Natriumjodid in 10 cm³ Wasser und 2 cm³ Eisessig versetzt und mit 0,1-n. Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert, wobei sich ein Verbrauch von 70,4 mg Benzopersäure (= 1,12 Mol) ergab. Die Mischung wurde nun mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Natriumthiosulfatlösung,verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde nach der Durchlaufmethode über 8 g Aluminiumoxyd chromatographisch getrennt, wobei zum Nachwaschen für jede Fraktion 25 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel dienten.

Die Fraktion 4 lieferte beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther etwa 10 mg farblose Prismen vom Smp. 130—132°. Das Produkt gab, in wenig Chloroform gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Die Mischprobe mit Acetyl-lithocholsäure-methylester vom Smp. 132—134°[4]) wies keine Schmelzpunktserniedrigung auf.

---

[1]) *S. Bergström, G. A. D. Haslewood,* Soc. **1939**, 541.

[2]) Die spez. Drehung von Acetyl-lithocholsäure-methylester (XIII) scheint in der Literatur nicht beschrieben zu sein. Wir haben sie daher bestimmt und fanden: $[\alpha]_D^{15} = +48{,}4^0 \pm 3^0$ (c = 0,805 in Aceton).

9,851 mg Subst. zu 1,2237 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0{,}39^0 \pm 0{,}02^0$

[3]) *J. Press, T. Reichstein,* Helv. **25**, 878 (1942).

[4]) *S. Bergström, G. A. D. Haslewood,* Soc. **1939**, 541.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand
1—3	Petroläther	Spuren
4	Benzol-Petroläther (1:9)	kurze Nadeln Smp. 128—130°
5	Benzol-Petroläther (1:4)	Krystalle Smp. 118—120°
6	Benzol-Petroläther (3:7)	lange Nadeln Smp. 120—123°
7—9	Benzol-Petroläther (1:1)	lange Nadeln Smp. 122—124°
10	Benzol	lange Nadeln Smp. 122—124°
11	Benzol	Krystalle Smp. 112—116°
12	Benzol-Äther (4:1)	breite Nadeln Smp. 138—142°
13	Äther	wenig
14	Chloroform	Spur

Die Fraktionen 6—10 gaben beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 110 mg lange farblose Nadeln vom Smp. 121—122°, die als Hauptprodukt der Reaktion den neuen 9,11-Oxydoester (X) darstellen. Sie wurden im Hochvakuum bei 60° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13} = +44{,}1^0 \pm 2^0$ (c = 1,3147 in Aceton).

13,139 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0{,}58^0 \pm 0{,}02^0$
3,687 mg Subst. gaben 9,822 mg CO_2 und 3,101 mg H_2O (E.T.H.)
$C_{27}H_{42}O_5$ (446,61) Ber. C 72,61 H 9,48%
Gef. „ 72,70 „ 9,41%

Das Produkt krystallisiert aus Methanol in langgestreckten, sechseckigen Blättchen. Es gibt mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Die Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial (Smp. 132—134°) schmolz bei 111—117°, die Mischprobe mit dem bei 140—142° schmelzenden 11,12-Oxydo-ester (XIX)[1]) bei 125—134°.

Die Fraktion 12 gab beim Umkrystallisieren aus Äther 20 mg breite Nadeln vom Smp. 140—142°. Die Mischprobe mit 3α-Acetoxy-11,12-oxydo-cholansäure-methylester (XIX)[1]) von demselben Schmelzpunkt zeigte keine Erniedrigung. Das Produkt gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung.

Reduktion von reinstem 3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI) nach *Wolff-Kishner*.

110 mg reinster 3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI) (die aus (XV) bereitet waren und im U.V.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei 241 mμ und log ε = 4,06 zeigten) wurden wie oben beschrieben durch zehnstündiges Erhitzen mit 0,55 cm³ Hydrazinhydrat und der Lösung von 0,1 g Natrium in 2,5 cm³ absolutem Alkohol auf 170° reduziert. Nach Methylierung und Acetylierung wurden durch zweimaliges Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 38 mg eines Krystallisates erhalten, das bei 132—135° schmolz, also praktisch gleich wie das weiter oben beschriebene aus nicht ganz reinem (VI) bereitete Mischkrystallisat.

[1]) *J. Press, T. Reichstein*, Helv. **25**, 878 (1942).

Umsetzung mit Benzopersäure. Die 38 mg rohes (IX) wurden mit der Lösung von 24,5 mg Benzopersäure (= 2 Mol) in 2 cm³ Chloroform versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Die Titration ergab hierauf einen Verbrauch von 12,1 mg (= 1,0 Mol). Die wie oben durchgeführte Aufarbeitung lieferte 39 mg neutrales Reaktionsprodukt, das wieder direkt chromatographisch getrennt wurde.

Bereits die erste Fraktion, die einen Rückstand hinterliess, lieferte beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther den 9,11-Oxydoester (X) als farblose Nadeln vom Smp. 120—122° (Mischprobe ebenso). Insgesamt wurden davon 23 mg in reiner Form erhalten. Aus den schwerer eluierbaren Fraktionen wurden nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 2 mg nicht ganz reiner 11,12-Oxydoester (XIX) gewonnen, der bei 138—141° schmolz und bei der Mischprobe mit reinem (XIX) keine Schmelzpunktserniedrigung gab. Acetyl-lithocholsäure-ester (XIII) konnte in diesem Versuch nicht aufgefunden werden. Wenn er entstanden ist, so war die vorhandene Menge sehr gering. Die gute Ausbeute an (X) zeigt, dass das Krystallisat vom Smp. 132—135° mindestens 60% (IX) enthielt.

Versuch zur Hydrierung von 3α-Acetoxy-9,11-oxydocholansäure-methylester (X).

In den Glaseinsatz eines Hochdruckrotierautoklaven wurde das aus 200 mg gepulverter Nickel-Aluminium-Legierung[1]) bereitete und mit Wasser und Methanol gewaschene „*Raney*-Nickel“[2]) gegeben und das Methanol bis auf 3 cm³ abgegossen. Hierauf wurden 75 mg 3α-Acetoxy-9,11-oxydo-cholansäure-methylester (X) vom Smp. 120 bis 121° zugegeben und nach Verdrängen der Luft Wasserstoff bis auf 130 Atmosphären eingepresst. Unter ständigem Rotieren wurde auf 100° aufgeheizt, 5 Stunden bei dieser Temperatur gehalten und hierauf erkalten gelassen. Der Inhalt wurde filtriert, das Nickel mit Methanol nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde zur Methylierung eventuell verseifter Anteile zunächst mit verdünnter Salzsäure versetzt, mit Äther ausgeschüttelt und die ätherische Lösung nach Waschen mit Wasser und Trocknen mit Natriumsulfat mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 10 Minuten stehen gelassen. Hierauf wurde eingedampft und der krystalline Rückstand zur Acetylierung in 1 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,1 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Nach Eindampfen zur Trockne wurde in Äther gelöst, die Lösung neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der krystalline Rückstand (76 mg) wurde in 5 cm³ Petroläther gelöst, durch eine mit Petroläther bereitete Säule aus 2,1 g

[1]) Wir danken Hrn. *M. Raney*, Chattanooga, U.S.A., für dieses Material.
[2]) Vgl. Organ. Synth. **21**, 15 (1941).

Aluminiumoxyd filtriert und diese mit je 7 cm³ der in der Tabelle genannten Lösungsmittel nachgewaschen.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Rückstand	
1—2	Petroläther	—	
3—10	Petroläther	breite Nadeln	Smp. 131—135°
11	Benzol-Petroläther (1:9)	breite Nadeln	Smp. 131—135°
12	Benzol-Petroläther (1:4)	breite Nadeln	Smp. 129—135°
13	Benzol-Petroläther (3:7)	Krystalle	Smp. 124—129°
14	Benzol-Petroläther (2:3)	Krystalle	Smp. 111—116°
15	Benzol-Petroläther (1:1)	feine Nadeln	Smp. 119—120°
16	Benzol	feine Nadeln	Smp. 119—120°
17	Benzol	feine Nadeln	Smp. 119—120°

Weitere mit Äther und Chloroform erhaltene Eluate gaben nur wenig amorphes Material.

Die Fraktionen 3—12 wurden vereinigt und aus Äther-Petroläther umkrystallisiert, wobei 12 mg breite Nadeln resultierten, die bei 132—135° schmolzen. In wenig Chloroform gelöst, gaben sie auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Die Mischprobe mit dem Krystallisat vom Smp. 132—135° (rohes (IX)) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Trotzdem ist es sehr zweifelhaft, ob es sich um den Ester (IX) handelt.

Die Fraktionen 15—17 wurden vereinigt und lieferten nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 10 mg feine Nadeln vom Smp. 119—121°, die bei der Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial (X) keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Auch die spez. Drehung war gleich, nämlich: $[\alpha]_D^{14} = +47{,}2^0 \pm 2^0$ (c = 1,0802 in Aceton).

10,796 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +0{,}51^0 \pm 0{,}02^0$

3α-Acetoxy-cholansäure-methylester aus (IX).

30 mg des Krystallisates vom Smp. 132—135° wurden in 3 cm³ reinstem Eisessig mit 10 mg Platinoxyd hydriert. Nach einer Stunde waren 4 cm³ Wasserstoff aufgenommen und die Hydrierung beendet (ber. für $PtO_2 \cdot H_2O$ = 2,24 cm³; für Subst. 1,56 cm³, total 3,8 cm³). Nach Filtration wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, die Lösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Umkrystallisieren aus Methanol gab 24 mg farblose Nadeln vom Smp. 132 bis 134°. Die Mischprobe mit dem gleich schmelzenden Acetyl-lithocholsäure-methylester (XIII) gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{17} = +47{,}1^0 \pm 2^0$ (c = 1,0186 in Aceton).

10,180 mg Subst. zu 0,9994 cm; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0{,}48^0 \pm 0{,}02^0$

Auch dieser Wert steht in guter Übereinstimmung mit dem oben für Acetyl-lithocholsäure-methylester gefundenen. Das Produkt gab im Gegensatz zum Ausgangsmaterial mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung.

Reiner 3α-Acetoxy-cholen-(9)-säure-methylester (IX) aus (XXI).

a) Mit Phosphoroxychlorid. 50 mg 3α-Acetoxy-11α-oxy-cholansäure-methylester (XXI)[1]) vom Smp. 146—148° wurden in 0,2 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,08 cm³ frisch destilliertem Phosphoroxychlorid versetzt und 24 Stunden bei 18° stehen gelassen, wobei die Lösung unter leichter Braunfärbung zu einer krystallinen Masse erstarrte. Es wurde mit Äther verdünnt, die Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, stark eingeengt und mit Petroläther versetzt, wobei farblose sechseckige Blättchen vom Smp. 135—138° auskrystallisierten. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Methanol gab 30 mg sechseckiger Blättchen vom Smp. 138—140°. Sie wurden im Hochvakuum bei 60° getrocknet. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{14} = +62{,}9^0 \pm 2^0$ (c = 1,0012 in Aceton).

10,006 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = +0{,}63^0 \pm 0{,}02$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum kurz geschmolzen und hierauf sofort verbrannt.

3,728 mg Subst. gaben 10,279 mg CO_2 und 3,271 mg H_2O (E.T.H.)

$C_{27}H_{42}O_4$ (430,61) Ber. C 75,32 H 9,83%

Gef. „ 75,25 „ 9,82%

Die Substanz gab bei der Mischprobe mit 3α-Acetoxy-cholansäure-methylester (XIII) und mit 3α-Acetoxy-cholen-(11)-säure-methylester (XX) keine Schmelzpunktserniedrigung, wohl aber bei der Mischprobe mit dem Ausgangsmaterial (XXI); die Mischung schmolz bei 120—122°. In wenig Chloroform gelöst, zeigte die Substanz auf Zusatz von Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

b) Mit Thionylchlorid. Die Lösung von 20 mg 3α-Acetoxy-11α-oxy-cholansäure-methylester (XXI) in 0,05 cm³ absolutem Pyridin wurde bei Zimmertemperatur mit 0,02 cm³ reinstem Thionylchlorid versetzt, wobei unter Dunkelfärbung eine heftige Reaktion eintrat. Nach 5 Minuten wurde das zu einer krystallinen Masse erstarrte Gemisch wie bei a) aufgearbeitet und gab 10 mg farblose sechseckige Blättchen vom Smp. 138—140°. Die Mischprobe mit dem nach a) bereiteten Material gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

In einem zweiten Versuch wurden 70 mg (XXI) in 0,2 cm³ absolutem Pyridin gelöst und bei — 15° tropfenweise mit 0,1 cm³ Thionylchlorid versetzt, wobei nur leichte Gelbfärbung eintrat. Das Gemisch

[1]) *A. Lardon, T. Reichstein*, 23. Mitteilung dieser Reihe, Helv. **26**, 586 (1943).

blieb 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und war dann fast schwarz gefärbt. Die wie bei a) durchgeführte Aufarbeitung gab ein braunes Krystallisat, das erst nach chromatographischer Reinigung und Umkrystallisieren aus Methanol 38 mg reines (IX) vom Smp. 138 bis 140° lieferte.

3α-Acetoxy-9,11-oxydo-cholansäure-methylester (X) aus reinem (IX).

51 mg reiner 3α-Acetoxy-cholen-(9)-säure-methylester (IX) vom Smp. 138—140° wurden in 0,4 cm³ Chloroform gelöst, mit der Lösung von 34 mg Benzopersäure in 1 cm³ Chloroform versetzt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Titration ergab hierauf einen Verbrauch von 1,0 Mol, und die Aufarbeitung lieferte 50 mg Neutralprodukt, das über 1,5 g Aluminiumoxyd nach der Durchlaufmethode sorgfältig chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen dienten je 5 cm³ der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand
1	Petroläther	Kryst. Smp. 115—120°
2—6	Petroläther	Kryst. Smp. 116—120°
7	Benzol-Petroläther (1:1)	Spur Kryst. Smp. 117—120°
8	Benzol	—
9	Äther	—
10	Methanol	Spur Öl

Die Fraktionen 1—7 gaben beim Umkrystallisieren aus Methanol 36 mg reinem 3α-Acetoxy-9,11-oxydo-cholansäure-methylester in Form langgestreckter sechseckiger Blättchen vom Smp. 119—121°. Die Mischprobe mit dem Analysenpräparat gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Weder aus der ersten noch aus der letzten Fraktion konnten andere Produkte isoliert werden, merkliche Mengen an (XIII) oder (XX) waren also nicht anwesend.

3α-Oxy-cholen-(9)-säure (VII).

100 mg reiner 3α-Acetoxy-cholen-(9)-säure-methylester (IX) vom Smp. 138—140° wurden mit der Lösung von 50 mg Kaliumhydroxyd in 4 cm³ Äthylalkohol 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von Wasser wurde der Alkohol im Vakuum abdestilliert, die wässrige Lösung mit verdünnter Salzsäure angesäuert und die ausgeschiedene Säure in Äther aufgenommen. Die Ätherlösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, auf ein kleines Volumen eingedampft und mit Petroläther versetzt, wobei die Säure in feinen Nadeln auskrystallisierte. Zweimaliges Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther lieferte feine Nadeln vom Smp. 190—192°, die

im Vakuum bei 80° getrocknet wurden. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13,5} = +46{,}9^0 \pm 2^0$ (c = 1,1087 in absolutem Alkohol).

11,080 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13,5} = +0{,}52^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,694 mg Subst. gaben 10,375 mg CO_2 und 3,332 mg H_2O (E.T.H.)

$C_{24}H_{38}O_3$ (374,54) Ber. C 76,96 H 10,23%
Gef. „ 76,65 „ 10,09%

Reinste Lithocholsäure, die durch Verseifung von chromatographisch gereinigtem Acetyl-lithocholsäure-methylester vom Smp. 134° gewonnen worden war, schmolz ebenfalls bei 190—192° korr. Genau gleich schmolz die Mischprobe mit (VII).

3α-Oxy-cholen-(9)-säure-methylester.

Ca. 50 mg reine 3α-Oxy-cholen-(9)-säure (VII) vom Smp. 190 bis 192° wurden mit überschüssiger, ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 5 Minuten stehen gelassen. Dann wurde mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, auf ein kleines Volumen eingedampft und mit Petroläther versetzt. Nochmaliges Umkrystallisieren aus Methanol-Wasser lieferte feine Nadeln vom Smp. 105—107°, die im Hochvakuum bei 40° getrocknet wurden. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13,5} = +45{,}3^0 \pm 2^0$ (c = 1,1917 in Aceton).

11,910 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13,5} = +0{,}54^0 \pm 0{,}02^0$

Zur Analyse wurde unmittelbar vor der Verbrennung im Vakuum kurz geschmolzen und im Schweinchen eingewogen.

3,910 mg Subst. gaben 11,044 mg CO_2 und 3,589 mg H_2O (E.T.H.)

$C_{25}H_{40}O_3$ (388,57) Ber. C 77,27 H 10,38%
Gef. „ 77,08 „ 10,27%

Die Mischprobe mit dem bei 130° schmelzenden Lithocholsäure-methylester schmolz bei 105—120°. Da wir über die spez. Drehung des Lithocholsäure-methylesters in der Literatur keine Angaben finden konnten, haben wir sie bestimmt und fanden: $[\alpha]_D^{13} = +32{,}8^0 \pm 2^0$ (c = 1,2202 in Aceton).

12,195 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0{,}40^0 \pm 0{,}02^0$

3α-Acetoxy-cholen-(9)-säure (VIII).

30 mg reine 3α-Oxy-cholen-(9)-säure (VII) wurden mit 1,5 cm³ Eisessig und 0,4 cm³ Essigsäure-anhydrid 1 Stunde unter Rückfluss gekocht. Dann wurden 0,5 cm³ Wasser zugegeben, 10 Minuten weiter erhitzt und hierauf bis zur Trübung mit Wasser angespritzt. Beim Erkalten fielen feine Blättchen aus, die bei 170—178° schmolzen. Diese wurden im Vakuum bei 0,05 mm Druck und 210° sublimiert und aus Äther-Petroläther umkrystallisiert, wobei farblose, recht-

eckige Plättchen resultierten, die bei 176—179° schmolzen. Sie wurden 1 Stunde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,750 mg Subst. gaben 10,283 mg CO_2 und 3,286 mg H_2O (E.T.H.)
$C_{26}H_{40}O_4$ (416,58) Ber. C 74,96 H 9,68%
Gef. „ 74,83 „ 9,81%

Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{13} = +60{,}0^0 \pm 2^0$ ($c = 1{,}201$ in Aceton).

12,001 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = +0{,}72^0 \pm 0{,}02^0$

3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säure-methylester (VI) aus (IX).

20 mg reiner 3α-Acetoxy-cholen-(9)-säure-methylester (IX) vom Smp. 138—140° wurden mit 2 cm³ 2-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung 8 Stunden auf 40° erwärmt und hierauf über Nacht bei 18° stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 30° Badtemperatur eingedampft, der Rückstand mit Wasser versetzt und die Suspension mit Äther ausgeschüttelt. Die mit verdünnter Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterliess beim Eindampfen 20 mg Rückstand, der in 2 Tropfen absolutem Benzol gelöst und nach Zusatz von Petroläther über 0,6 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographisch getrennt wurde. Zum Nachwaschen dienten je 2 cm³ der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
1	Petroläther	Blättchen	Smp. 130—140°
2	Petroläther	Blättchen	Smp. 120—125°
3	Petroläther	Nadeln	Smp. 140—146°
4—6	Benzol-Petroläther	Nadeln	Smp. 143—146°
7—8	Benzol	Nadeln	Smp. 143—146°
9	Benzol-Äther (9:1)	Nadeln	Smp. 144—147°
10	Benzol-Äther (1:1)		—

Die Fraktion 1 bestand grösstenteils aus unverändertem Ausgangsmaterial (IX). Die Fraktionen 4—9 gaben beim Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther 7 mg feine Nadeln vom Smp. 145—147°. Die Mischprobe mit reinstem 3α-Acetoxy-12-keto-cholen-(9)-säuremethylester (VI) gab keine Schmelzpunktserniedrigung, hingegen wurde mit dem Ausgangsmaterial (IX) eine deutliche Erniedrigung beobachtet. Das Produkt gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Das U.V.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte ein Maximum bei 241 mμ und $\log \varepsilon = 3{,}92$. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

2,966 mg Subst. gaben 7,974 mg CO_2 und 2,47 mg H_2O (E.T.H.)
$C_{27}H_{40}O_5$ (447,79) Ber. C 72,94 H 9,07%
Gef. „ 73,37 „ 9,32%

Einwirkung von Salzsäure auf 3α-Acetoxy-9,11-oxydo-cholansäure-methylester (X).

40 mg 3α-Acetoxy-9,11-oxydo-cholansäure-methylester (X) vom Smp. 120—122° wurden in 1 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,2 cm³ konz. Salzsäure versetzt und ½ Stunde unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum wurde mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und anschliessend durch 16-stündiges Stehen mit 0,5 cm³ absolutem Pyridin und 0,1 cm³ Essigsäure-anhydrid acetyliert. Das in üblicher Weise aufgearbeitete Produkt (38 mg) krystallisierte nicht. Die chromatographische Trennung lieferte 4 mg farblose Nadeln vom Smp. 120—122°, die sich nach Mischprobe als unverändertes Ausgangsmaterial (X) erwiesen. Der Rest krystallisierte nicht.

Die Mikroanalysen wurden teils bei Hrn. Dr.-Ing. *A. Schoeller*, Berlin (*Sch.*), teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (E.T.H.), (Leitung *H. Gubser*) ausgeführt.

Curriculum vitae.

Als Sohn des Rudolf P. H. Seebeck und der Dorothea geb. Paulsen wurde ich, *Ewald Franz Seebeck*, am 10. April 1914 in Olten geboren. Dort besuchte ich die Primar- und Bezirksschule und absolvierte dann das Gymnasium in Solothurn, wo ich im Herbst 1933 die Matura erhielt. Hierauf widmete ich mich dem Studium der Pharmazie, zuerst drei Semester in Basel, dann drei Semester in Lausanne, in der Apotheke von Herrn R. Weitzel; absolvierte das Assistentenjahr in Zürich, in der Apotheke von Herrn Dr. W. Lang und setzte dann meine Studien an der Eidg. Technischen Hochschule fort, wo ich im April 1939 die Fachprüfung bestand.

In der folgenden Zeit schloss ich eine schon während des Studiums begonnene Wettbewerbsarbeit über Ratanhiatrockenextrakte ab, wofür mir der Preis des Schweizerischen Pharmazeutischen Studienfonds zugesprochen wurde. Seither arbeite ich in der Pharmazeutischen Anstalt der Universität Basel, wo unter Leitung von Herrn Professor Dr. T. Reichstein vorliegende Arbeit ausgeführt wurde.

Im Verlaufe meiner Studien besuchte ich die Vorlesungen und Praktika der Herren Professoren: Brogle, Büchi, Eder, Erlenmeyer, Fichter, Fischer, Flück, Furter, Gäumann, Gonzenbach, Hagenbach, Reichstein, Rupe, Ruzicka, Senn, Vischer, Wagner, Waser, Winterstein.